

ANTIBACTERIAL AGENT IMPARTED WITH DEODORIZING ABILITY

Patent Number: JP11228433
Publication date: 1999-08-24
Inventor(s): SUZUKI NOBUHIRO; MIYAKI AKIRA; TOYAMA HATSUO
Applicant(s): SUZUKI NOBUHIRO
Requested Patent: JP11228433
Application Number: JP19980054400 19980218
Priority Number(s):
IPC Classification: A61K35/78; A01N25/10; A01N35/04; A01N65/00; A61K31/12; A61L9/01
EC Classification:
Equivalents:

Abstract

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain the subject antibacterial agent effective, in particular, against food poisoning bacteria such as pathogenic *Escherichia coli* O-157 and *Legionella* bacterial, by including phytoncide and organic matter bearing tropolone skeleton.

SOLUTION: This antibacterial agent contains, as active ingredients, (A) pref. 0.3-30 wt.% of phytoncide (e.g. an extract prepared by extracting about 180 kinds of organic compounds using each unique squeezing equipment and vacuum dry distillation column from 35 kinds of plants with the main stocks including *Cryptomeria japonica*, white cedar (Hinoki), *Abies firma*, *Urtica thumbergia*, *Cinnamomum camphora*, *Pinus Thunbergii*, *Pinus densiflora*, *Picea jezoensis*, persimmon, *Sasa albo-marginata*, *Artemisia princeps*, tea, *Betula tauschii*, *perilla frutescens crispa*, aloe, *Zanthoxylum piperitum* and *Gynostemma pentaphyllum*, followed by blending the resultant respective extracts), and (B pref. 0.1-2 wt.% of organic substance(s) bearing tropolone skeleton (e.g. hinokitiol, β-dolabrin), and pref. further, (C) 0.5-10 wt.% of an emulsifier and (D 0.5-5 wt.% of organic acid(s). It is preferable that this antibacterial agent is made to a gel-like material by the further addition of a gelatinizer.

Data supplied from the esp@cenet database - I2

This Page Blank (uspto)

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平11-228433

(43) 公開日 平成11年(1999) 8月24日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	F I	
A 6 1 K 35/78	A D Z	A 6 1 K 35/78	A D Z W
A 0 1 N 25/10		A 0 1 N 25/10	
35/04		35/04	
65/00		65/00	A
A 6 1 K 31/12		A 6 1 K 31/12	
審査請求 未請求 請求項の数 8 F D (全 16 頁) 最終頁に続く			

(21) 出願番号 特願平10-54400

(22) 出願日 平成10年(1998) 2月18日

(71) 出願人 394000482

鈴木 信弘

静岡県浜松市蛸塚1丁目9番14号

(72) 発明者 鈴木 信弘

静岡県浜松市蛸塚1丁目9番14号

(72) 発明者 宮木 昭

静岡県浜松市三方原町1676番地の3

(72) 発明者 遠山 初夫

神奈川県厚木市旭町3-25-13

(54) 【発明の名称】 消臭性を付与した抗菌剤

(57) 【要約】

【課題】植物由来の成分をその有効成分とする、消臭性を付与した抗菌剤を提供する。特に、病原性大腸菌O157をはじめとする食中毒菌やレジオネラ菌に対して有効な抗菌剤を提供する。

【解決手段】フィトンチッドとヒノキチオールとを含み、必要によりゲル化剤及び乳化剤を含んでなることを特徴とする。

【特許請求の範囲】

【請求項1】フィトンチッドとトロポロン骨格をもつ有機物とを含んでなることを特徴とする消臭性を付与した抗菌剤。

【請求項2】前記フィトンチッドと前記トロポロン骨格をもつ有機物に加えて、さらに乳化剤を含有してなる請求項1に記載の消臭性を付与した抗菌剤。

【請求項3】前記フィトンチッド、前記トロポロン骨格をもつ有機物、及び前記乳化剤に加えて、さらに有機酸を含有してなる請求項2に記載の消臭性を付与した抗菌剤。

【請求項4】前記トロポロン骨格をもつ有機物はヒノキチオール及び β -ドラブリンの少なくとも一種である請求項1～3のいずれかに記載の消臭性を付与した抗菌剤。

【請求項5】前記トロポロン骨格をもつ有機物がヒノキチオール及び β -ドラブリンの少なくとも一種であり、前記フィトンチッド、ヒノキチオール若しくは β -ドラブリン、前記乳化剤及び前記有機酸の配合割合が総重量に対して、それぞれ0.3～30重量%、0.1～2重量%、0.5～10重量%及び0.5～5重量%の範囲にある請求項3に記載の消臭性を付与した抗菌剤。

【請求項6】さらにゲル化剤を添加してゲル状物とした請求項1～5のいずれかに記載の消臭性を付与した抗菌剤。

【請求項7】前記ゲル化剤が吸水性樹脂である請求項6に記載の消臭性を付与した抗菌剤。

【請求項8】前記吸水性樹脂の配合割合が、総重量に対して4～15重量%の範囲にある請求項7に記載の消臭性を付与した抗菌剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、植物由来の成分をその有効成分とする消臭性を付与した抗菌剤に関するものである。

【0002】

【従来の技術】一般に植物性の消臭剤は、植物の葉、茎などから圧搾法、真空乾留法などにより有機化合物を抽出し、何種類かの植物から抽出した有機化合物を混合したもので、植物由来の成分を有効成分としており安全性が高く望ましい。しかし、このような消臭剤には一般的に抗菌性は付与されておらず、抗菌性と消臭性とを併せもつ消臭性抗菌剤が望まれている。

【0003】ところで、近年は、調理施設等での暖房設備の普及等により食中毒菌による食中毒が時期を問わず、各所で発生しているのが現状であり、特に病原性大腸菌O157は感染源の特定も困難で大きな社会問題となっている。また、浴槽中の湯を浄化して循環使用する循環温浴器（所謂24時間風呂）が普及してきているが、40℃前後のお湯を常時ためておくため、雑菌が繁

殖しやすく、特に肺炎の原因となるレジオネラ菌が繁殖しやすいことが指摘されており、問題となっている。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】そこで、本発明の目的は、植物由来の成分をその有効成分とする、消臭性を付与した抗菌剤を提供することにある。特に、病原性大腸菌O157をはじめとする食中毒菌やレジオネラ菌に対して有効な抗菌剤を提供することにある。

【0005】

【課題を解決するための手段】上記課題を解決するために、本発明者は鋭意研究の結果、多数の植物から抽出した植物エキスを有効成分とし、消臭性をもつとされるフィトンチッドに、抗菌効果のあるとされるヒノキチオール、 β -ドラブリンなどのトロポロン骨格を有する有機物を配合することにより、高い消臭効果と高い抗菌効果とを併せもたせることができることを見出し、本発明を完成した。即ち、本発明の消臭性を付与した抗菌剤は、フィトンチッドとトロポロン骨格をもつ有機物とを含んでなることを特徴としている。

【0006】なお、フィトンチッドは、ロシア語で、樹木や草が炭素同化作用の時に酸素と一緒に発散する殺菌作用のある芳香性物質（精油成分）のことを言う。フィトンチッドには消臭作用があり、悪臭を中和相殺により消臭する。また、前記フィトンチッドとトロポロン骨格をもつ有機物に加えて、さらに乳化剤を含有させることが好ましい。また、前記トロポロン骨格をもつ有機物としてはヒノキチオールと β -ドラブリンが好ましい。さらにゲル化剤を添加してゲル状物とするよい。

【0007】

【発明の実施の形態】以下、本発明の実施の形態を具体的に説明する。本発明におけるフィトンチッドの一例として、杉、檜、樅、イラクサ、楠、黒松、赤松、エゾマツ、柿、熊笹、ヨモギ、茶、白樺、シソ、アロエ、サンショウ、アマ茶ズル等を主原料とした35種類の植物から独特の圧搾装置と真空乾留装置により約180種類の有機化合物を抽出し、これらをブレンドした抽出エキスがある。かかる抽出エキスは水溶性で、高い消臭効果を有している。

【0008】トロポロン骨格をもつ有機物としては、例えば、ヒノキチオール（別名 β -ツヤプリシン）、 β -ドラブリン、これらの誘導体などが挙げられる。ヒノキチオールは、油溶性の結晶性物質で、強い抗菌性を有している。ヒノキチオールについては、天然品と合成品のいずれでもよい。天然品は、青森産ヒバ油、台湾ヒノキ油、ウェスタン・レッド・シーダー油などに含まれている。天然品にはヒノキチオールとともに、ヒノキチオールと同等の抗菌性をもつ β -ドラブリンが同量含まれている。したがって合成品よりも天然品の方がコスト面において有利である。

【0009】上記フィトンチッドは水溶性であり、トロ

ボロン骨格をもつ有機物としてのヒノキチオールは油性であるので、これらを均一に混合するには、乳化剤（界面活性剤）を添加する。このような乳化剤としては、ヒマシ油など両者を均一に混合させてエマルジョン化できるものであれば特に制限はない。さらに、有機酸、有機酸塩ないし有機酸エステルを添加すると、乳化性が増す。このような有機酸類としては、例えばクエン酸、クエン酸ナトリウム、クエン酸トリエチルなどが挙げられる。また、溶媒としては、水を用いるが、ヒノキチオールがアルコール溶解性をもつので、アルコールを添加することもできる。ここで用いる水は、塩素やミネラル分などの不純物を含まないイオン交換水が好ましい。

【0010】上記各成分の配合割合は用いる成分の種類により変動はあるが、トロボロン骨格をもつ有機物としてヒノキチオール及びβ-ドラブリンの少なくとも一種を用いた場合、フィトンチッド0.3～30重量%、ヒノキチオール若しくはβ-ドラブリン0.1～2重量%、乳化剤0.5～10重量%、有機酸類0.5～5重量%程度で、残部溶媒とする。フィトンチッドの添加量が少なすぎると消臭効果が不十分となり、多すぎるとコスト高となる。ヒノキチオールの添加量が少なすぎると十分な抗菌効果が得られず、多すぎるとコスト高となる。乳化剤や有機酸類の添加量が少なすぎるとエマルジョン化が不十分となりヒノキチオール若しくはβ-ドラブリンが結晶化して析出してしまい、一方多すぎると乳化剤等が白濁化し沈殿物が多くなる。

【0011】使用形態としては、水溶液（液状物）として用いることもできるが、冷蔵庫、車中、室内などで用いるには、ゲル状物として容器に入れ有効成分を揮発させるようにして用いるのが便利である。所謂24時間風呂に使用するには、液状物を浴湯中に添加混合して用いることもできるが、容器に詰めたゲル状物を循環温浴器の空気取り入れ口などに設置して用いることもできる。ゲル状物とするにはゲル化剤として吸水性樹脂を添加すればよい。フィトンチッド、ヒノキチオール若しくはβ-ドラブリンなどの有効成分は揮発性を持ち、ゲル状物とすることにより表面積を大きくして有効成分の揮発を促し、消臭効果及び抗菌効果を高めることができる。ゲル状物として空气中に放置すると、吸水性樹脂中の水が蒸発するが、このとき、樹脂の表面に吸着している有効成分を伴いながら蒸発する。

【0012】ゲル状物として用いる場合、ゲル状物全体に対して吸水性樹脂4～15重量%程度配合する。配合割合が少なすぎると表面積が不足し有効成分の揮発性が悪くなり、多すぎると揮発性は良くなるが、かさ比重が

小さくなり、同量の有効成分を含ませるのに大きな容器を用いなければならない。

【0013】

【実施例】以下に本発明の実施例を挙げてさらに具体的に説明する。これらの実施例は特許請求の範囲を限定するものではない。また、これらの実施例では、フィトンチッドとして株式会社東海興産製のフィトンチッド（商品名「スメルナーク」）を、ヒノキチオールとして小川香料株式会社製のヒノキチオール（商品名「ヒノキチオール」）を使用した。このヒノキチオールにはβ-ドラブリンは含まれていない。なお、「スメルナーク」は、液体で、比重1.0037、油分0.2%、有機酸0.37%、界面活性剤相当分1.38%、遊離アルカリ0%である。また「ヒノキチオール」は、結晶、結晶性粉末又は塊で、融点48～52℃、乾燥減量0.5%以下、含量98.0～105.0%、重金属含量（Pbとして）20ppm以下、ヒ素含量（As₂O₃として）2ppm以下である。

【0014】【抗菌効果試験】「スメルナーク」単独、カテキン単独、「ヒノキチオール」単独、「スメルナーク」と「ヒノキチオール」との混合液、のそれぞれについて抗菌効果を試験した。

【0015】実験例1

「スメルナーク」の所定濃度の溶液を試験液とし、この試験液に大腸菌（血清型O157:H7）の菌液を接種した後、室温で作用させ、経時的に試験液中の生残菌の有無を調べた。

【0016】試験菌として大腸菌、血清型O157:H7、ベロ毒素非産生株（Escherichia coli ATCC 4388）を用いた。菌液を調製する際には、NA培地（普通寒天培地（栄研化学株式会社製））で37±1℃、16～24時間前培養した菌体をNA培地に再度接種して37±1℃、16～20時間培養し、これによって得た菌体を生理食塩水に均一に分散させて、1ml当たりの菌数が約10⁸となるように菌液を調製した。試験液としては、検体（「スメルナーク」）原液そのまま、検体の10、5、2.5%（V/V）溶液を調製し試験液とした。そして、試験液10mlに菌液1mlを接種し、室温で作用させ、0.5、1、3、6時間後に、一白金耳量をNB培地（肉エキス0.2%を添加した普通ブイヨン（栄研化学株式会社製））に接種・培養（37℃ 2日間培養）し、生育の有無を確認した。その結果を表1に示す。表中の符号「+」は生育有り、符号「-」は生育無しをそれぞれ示す。

【0017】

【表1】

表1 抗菌効果試験結果((財) 日本食品分析センター調べ)

試験菌	検体濃度 %(V/V)	生育の有無			
		30分後	1時間後	3時間後	6時間後
大腸菌	100(原液)	+	-	-	-
(血清型	10	+	+	+	+
0157:H7)	5	+	+	+	+
	2.5	+	+	+	+

【0018】実験例2

検体としてカテキンを用い、カテキンを精製水で1.0、0.5、0.1%(W/V)溶液を調製して試験液とした他は実験例1と同様に試験した。その結果を表2

に示す。表中の符号「+」は生育が有ることを示す。

【0019】

【表2】

表2 抗菌効果試験結果((財) 日本食品分析センター調べ)

試験菌	検体濃度 %(V/V)	生育の有無			
		30分後	1時間後	3時間後	6時間後
大腸菌	1.0	+	+	+	+
(血清型	0.5	+	+	+	+
0157:H7)	0.1	+	+	+	+

【0020】実験例3

検体として”ヒノキチオール”を用い、”ヒノキチオール”を5%(V/V)エタノール溶液で1.0、0.1、0.01、及び0%(W/V)溶液を調製して試験液とした他は実験例1と同様に試験した。その結果を表3に示す。但し、0%試験液はエタノール溶液のみで、

抗菌効果がないことを証明するためのものである。表中の符号「+」は生育有り、符号「-」は生育無しをそれぞれ示す。

【0021】

【表3】

表3 抗菌効果試験結果((財) 日本食品分析センター調べ)

試験菌	検体濃度 %(V/V)	生育の有無				
		15分後	30分後	1時間後	3時間後	6時間後
大腸菌	1.0	+	+	-	-	-
(血清型	0.1	+	+	+	+	+
0157:H7)	0.01	+	+	+	+	+
	0	+	+	+	+	+

【0022】実験例4

”スメルナーク”の2.5%(V/V)溶液に”ヒノキチオール”を約1%添加したものを試験液とし、この試験液に各種細菌の菌液を接種し、室温で作用させ、経時的に試験液中の生残菌の有無を調べた。

【0023】試験菌として(1)大腸菌、血清型0157:H7、ベロ毒素非産生株(*Escherichia coli* ATCC 43888)、(2)大腸菌(*Escherichia coli* IF0 3972)、(3)黄色ブドウ球菌(*Staphylococcus aureus* IF0 12732)、(4)サルモネラ(*Salmonella enteritidis* IF0 3313)、(5)腸炎ビブリオ(*Vibrio parahaemolyticus* IF0 12711)を用いた。

【0024】菌液を調製する際には、大腸菌(0157:H7)、大腸菌、黄色ブドウ球菌及びサルモネラに

ついては、NA培地(普通寒天培地(栄研化学株式会社製))で $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 、16~24時間前培養した菌体をNA培地に再度接種して $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 、16~20時間培養し、これによって得た菌体を生理食塩水に均一に分散させて、1ml当たりの菌数が約 10^8 となるように菌液を調整した。また、腸炎ビブリオについては、3%NaCl添加NA培地(塩化ナトリウム3%を添加したNA培地)で $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 、16~24時間前培養した菌体を3%NaCl添加NA培地に再度接種して $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 、16~20時間培養し、それによって得た菌体を3%塩化ナトリウム溶液に均一に分散させて、1ml当たりの菌数が約 10^8 となるように菌液を調整した。また、試験液は、”スメルナーク”の2.5%(V/V)溶液80mlに、”ヒノキチオール”の20%(W/V)エタノール溶液4ml

1を添加することによって得られた。

【0025】そして、試験液10mlに菌液1mlを接種し、室温で作用させ、30分、1、3及び6時間後に一白金耳量をNB培地（肉エキス0.2%を添加した普通ブイヨン（栄研化学株式会社製））に接種・培養（37℃、2日間培養）し、生育の有無を確認した。なお、腸

炎ビブリオについては、NB培地に代えて3%NaCl添加NB培地（塩化ナトリウム3%を添加したNB培地）を用いた。その結果を表4に示す。表中の符号「-」は生育が無いことを示す。

【0026】

【表4】

表4 抗菌効果試験結果（（財）日本食品分析センター調べ）

試 験 菌	生 育 の 有 無			
	30分後	1時間後	3時間後	6時間後
大腸菌(O157:H7)	-	-	-	-
大腸菌	-	-	-	-
黄色ブドウ球菌	-	-	-	-
サルモネラ	-	-	-	-
腸炎ビブリオ	-	-	-	-

【0027】実験例5.

“スメルナーク”と“ヒノキチオール”の混合液であって、“ヒノキチオール”の添加量を0.75%、0.5%、0.25%にした溶液をそれぞれ、試験液1)、試験液2)、試験液3)とし、これらの試験液に細菌の菌液を接種して室温で作用させ、そして試験液中の細菌の生育の有無を経時的に観察した。

【0028】試験菌として(1)大腸菌(*Escherichia coli* IFO 3972)、(2)黄色ブドウ球菌(*Staphylococcus aureus* IFO 12732)、を用いた。菌液を調製する際には、まず、菌体をNA培地（普通寒天培地（栄研化学株式会社製））で37±1℃、16～24時間前培養してから、再度NA培地に接種し37±1℃、16～20時間培養した。続いて、このようにして得た菌体を生理食塩水に均一に分散させ、1ml当たりの菌数が約10⁸とな

るように菌液を調整した。また、試験液1)、2)、3)は、2.5% (V/V) の“スメルナーク”溶液80mlに、20% (W/V) の“ヒノキチオール”を含んだエタノールを適量ずつ加えることによって得られた。

【0029】そして、試験液1)、2)、3)10mlにそれぞれ、上述のように調製された菌液を1mlずつ接種して室温で作用させた。それから10、30、60及び180分後に、一白金耳量取り、NB培地（肉エキス0.2%を添加した普通ブイヨン（栄研化学株式会社製））に接種・培養（37℃、2日間培養）し、生育の有無を観察した。その結果を表5に示す。表中の符号「-」は生育が無いことを示す。

【0030】

【表5】

表5 抗菌効果試験結果（（財）日本食品分析センター調べ）

試 験 菌	試験液	生 育 の 有 無			
		10分後	30分後	60分後	180分後
大腸菌	1)	-	-	-	-
	2)	-	-	-	-
	3)	+	-	-	-
黄色ブドウ球菌	1)	-	-	-	-
	2)	-	-	-	-
	3)	-	-	-	-

【0031】上記の実験結果から分かるように、大腸菌(O157:H7)に対して“スメルナーク”単独では、原液においては抗菌効果が認められるが、希釈すると効果が認められない。カテキンについては抗菌効果は認められない。“ヒノキチオール”については抗菌効果が認められる。そして、“スメルナーク”と“ヒノキチオール”とを混合したものでは、大腸菌(O157:H

7)に対してさらに強い抗菌効果が認められ、他の細菌類（大腸菌、黄色ブドウ球菌、サルモネラ、腸炎ビブリオ）に対しても強い抗菌効果が認められる。また、“スメルナーク”と“ヒノキチオール”とを混合したものは、“ヒノキチオール”の添加量が0.25%以上あれば、抗菌効果が認められる。

【0032】【ゲル状物の製造】

ゲル状物1) ”スメルナーク” 2.5重量%、”ヒノキチオール” 1.0重量%、未変成アルコール(エタノール) 5重量%、乳化剤としてポリオキシエチレン硬化ヒマシ油(日本サーファクタント工業株式会社製、商品名 NIKKOL HCO-50) 2.0重量%及びポリオキシエチレン硬化ヒマシ油(日本サーファクタント工業株式会社製、商品名 NIKKOL HCO-60) 2.0重量%、クエン酸0.3重量%、クエン酸ソーダ0.2重量%、吸水性樹脂(クラレ製、商品名KIゲル 201K) 4.0重量%、残部イオン交換水となるような配合割合とし、未変成アルコールに”ヒノキチオール”を溶かし、アルコールに溶かした”ヒノキチオール”、”スメルナーク”及びその他の成分をイオン交換水に溶かし均一に混合した。次いで、この混合液に吸水性樹脂を添加混合して淡黄色で半透明のゲル状物1)を得た。

【0033】ゲル状物2) 未変成アルコール(エタノール)の配合割合を20.0重量%とした他は上記ゲル状物1)において述べたのと同様に処理して淡黄色で半透明のゲル状物2)を得た。上記ゲル状物1)及びゲル状物2)はアルコールを含むためアルコール臭を有するが、2〜3日間放置するとアルコールが揮発してアルコール臭は消える。

【0034】ゲル状物3) ”スメルナーク” 2.5重量%、”ヒノキチオール” 1.0重量%、クエン酸トリエチル3.0重量%、乳化剤としてポリオキシエチレン硬化ヒマシ油(日本サーファクタント工業株式会社製、商品名 NIKKOL HCO-50) 1.0重量%、吸水性樹脂(クラレ製、商品名 KIゲル 201K) 4.0重量%、残部イオン交換水となるような配合割合とし、”ヒノキチオール”、クエン酸トリエチル、NIKKOL HCO-50を混合し、これにイオン交換水の一部を加えてミキサーで乳化した。次いで、この混合液に吸水性樹脂を添加混合して淡黄色で半透明のゲル状物3)を得た。このゲル状物3)は略無臭であった。

【0035】ゲル状物4) クエン酸トリエチル、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油(日本サーファクタント工業株式会社製、商品名 NIKKOL HCO-50)及び吸水性樹脂(クラレ製、商品名 KIゲル 201K)の配合割合をそれぞれ7.0重量%、2.0重量%、7.0重量%とした他は上記ゲル状物3)において述べたのと同様に処理してゲル状物4)を得た。

【0036】[ゲル状物の抗菌効果試験1]検体1)としてゲル状物3)、検体2)としてゲル状物2)を用い、

図1に示すように、ゲル状物(検体)10を容器11に詰め、各種細菌の菌液をそれぞれ塗抹した平板培地12を、検体10とともに密閉容器(約2.7リットル)13に入れて10℃、35℃で培養後、生菌数を測定した。

【0037】試験菌として上記実験例4において用いたものとレジオネラ(*Legionella pneumophila* GIFU 9134)を用いた。菌液を調製する際には、大腸菌(O157:H7)、大腸菌、黄色ブドウ球菌及びサルモネラについては、NA培地(普通寒天培地(栄研化学株式会社製))で37±1℃、16〜24時間前培養した菌体をNA培地に再度接種して37±1℃、16〜20時間培養し、これによって得た菌体をリン酸緩衝液に均一に分散させて、1ml当たりの菌数が約10³となるように菌液を調製した。また、腸炎ビブリオについては、3%NaCl添加NA培地(塩化ナトリウム3%を添加したNA培地)で37±1℃、16〜24時間前培養した菌体を3%NaCl添加NA培地に再度接種して37±1℃、16〜20時間培養し、これによって得た菌体を3%塩化ナトリウム溶液に均一に分散させて、1ml当たりの菌数が約10³となるように菌数を調製した。レジオネラについては、B-CYEα寒天培地(ポリメディア)で37±1℃、16〜24時間前培養した菌体をB-CYEα寒天培地に再度接種して37±1℃、16〜20時間培養し、これによって得た菌体をリン酸緩衝液に均一に分散させて、1ml当たりの菌数が約10³となるように菌数を調製した。

【0038】そして、大腸菌(O157:H7)、大腸菌、黄色ブドウ球菌及びサルモネラについては、SA平板培地(標準寒天培地(栄研化学株式会社製))12に菌液0.1mlを塗抹後、検体10とともに密閉容器13に入れ、10℃ 7日間及び35℃ 2日間培養して、生菌数を測定した。腸炎ビブリオについては、SA平板培地に替えて3%NaCl添加SA平板培地(塩化ナトリウム3%を添加したSA培地)を用いた。レジオネラについては、B-CYEα寒天培地12に菌液0.1mlを塗抹後、検体10とともに密閉容器13に入れ、10℃ 7日間及び35℃ 5日間培養して、生菌数を測定した。また、検体10を入れずに培養したもの(対照)も同様に試験した。その結果を表6に示す。表6において符号「-」は菌体が生育しなかったことを示す。

【0039】

【表6】

表6 殺菌効果試験結果（（財）日本食品分析センター調べ）

試 験 菌	試 料	平板1枚当たりの生菌数	
		35℃培養	10℃培養
大腸菌 (0157:H7)	検体1)	0	0
	検体2)	0	0
	対照	91	179
大腸菌	検体1)	0	0
	検体2)	0	0
	対照	49	141
黄色ブドウ球菌	検体1)	0	-
	検体2)	0	-
	対照	96	-
サルモネラ	検体1)	0	0
	検体2)	0	0
	対照	95	76
腸炎ビブリオ	検体1)	0	-
	検体2)	0	-
	対照	37	-
レジオネラ	検体1)	0	-
	検体2)	0	-
	対照	11	-

【0040】表6の結果から、本発明の抗菌剤をゲル状物とした場合にも、ゲル状物から揮発した有効成分が各種細菌に対して高い抗菌効果を示すことが分かる。なお、黄色ブドウ球菌、腸炎ビブリオ及びレジオネラについては、10℃では菌体が生育せず、低温に弱いことが分かる。

【0041】〔ゲル状物の抗菌効果試験2〕検体として上記ゲル状物4）を用いて、冷蔵庫（約294リットル）内での各種細菌に対する抗菌効果試験を行った。

【0042】試験菌として（1）腸管出血性大腸菌O157、VT-2産生株（*Escherichia coli* IID 959）、（2）大腸菌（*Escherichia coli* IFO 3972）、（3）黄色ブドウ球菌（*Staphylococcus aureus* IFO 12732）、（4）サルモネラ（*Salmonella* Typhimurium IFO 12529）、（5）腸炎ビブリオ（*Vibrio parahaemolyticus* IFO 12711）を用いた。

【0043】腸管出血性大腸菌、大腸菌、黄色ブドウ球菌及びサルモネラについては、SCD培地で18時間培養した後、リン酸緩衝液に均一に分散させることによ

て、1ml当たりの菌数が約 10^4 となるように調製された菌液を得た。腸炎ビブリオについては、3%NaCl添加SCD培地（塩化ナトリウムを3%添加したSCD培地）で18時間培養した後、3%NaCl添加リン酸緩衝液に均一に分散させることによって、1ml当たりの菌数が約 10^4 となるように調製された菌液を得た。

【0044】感受性ディスク用寒天培地（日水製薬株式会社製）に、上述のように調製された菌液を0.1ml塗抹し、24時間前から検体（ゲル状物4）が入っている冷蔵庫（約294リットル、10℃）内に置いた。その後、この冷蔵庫内での各試験菌株の生育の有無を1、3、6、24時間後及び1週間後に観察した。また、対照として、検体が入っていない冷蔵庫（約294リットル、10℃）内での各試験菌株の生育の有無も同様に観察した。その結果を表7に示す。表中の符号「+」は生育有り、符号「-」は生育無しをそれぞれ示す。

【0045】

【表7】

表7 抗菌効果試験結果（（社）日本食品衛生協会調べ）

試 験 菌	試 料	生 育 の 有 無				
		1時間後	3時間後	6時間後	24時間後	1週間後
腸管出血性大腸菌	検体	-	-	-	-	-
	対照	-	-	-	+	+
大腸菌	検体	-	-	-	-	-
	対照	-	-	-	+	+
黄色ブドウ球菌	検体	-	-	-	-	-
	対照	-	-	-	-	+
サルモネラ	検体	-	-	-	-	-
	対照	-	-	-	-	+
腸炎ビブリオ	検体	-	-	-	-	-
	対照	-	-	-	+	+

【0046】表7に示すように、対照では、24時間後あるいは1週間後にはすべての試験菌株において生育が認められるのに対して、検体を入れておいた場合には、いずれの試験菌においても生育が認められなかった。この結果より、本発明の消臭性を付与した抗菌剤のゲル状物を冷蔵庫内に置いた場合、各種細菌に対して抗菌効果を有することが分かる。

【0047】〔ゲル状物の抗菌効果試験3〕図2に示すように、浴槽15に40℃前後の湯16を200リットル程溜め、循環温浴装置17を設置し、湯16の温度を40℃前後に保持するように循環温浴装置17を動作させて、上記ゲル状物3）28のレジオネラ菌に対する抗菌効果を試験した。比較のため、オゾンを作作用させた場合、塩素を浴湯16に添加した場合、ブランクテストもそれぞれ実施した。ここで、オゾンの添加量は0.05～0.1g/時間程度とし、8時間連続的に作用させた。塩素は浴湯16中の塩素の初期濃度が1.5ppmとなるように添加した。なお、試験中、室の雰囲気温度は50℃程度であった。

【0048】循環温浴装置17は図3に示すように、ポンプ18により浴湯16を吸引ノズル19から吸い込

み、ヘアキャッチャー20で髪の毛、糸屑等の大きなゴミを取り除き、カートリッジフィルター21で湯垢等を吸着しポンプ18への異物混入を防ぎ、ポンプ18により吸い上げた浴湯を加圧しながらろ材22a、22bに送り込む。ろ材22a、22bで有機物や雑菌を吸着除去し、ヒーター23で加温・保温して吐出ノズル24から浴槽15内に吐き出す。符号25は、オゾン発生器で、このオゾン発生器25から発生したオゾンをエアータンク26を介して吐出ノズル24に接続して吐出ノズル24から吐出させることができる。このオゾン発生器25を動作させてオゾンを作作用させた（その他の場合はオゾン発生器25を動作せず）。そして、このオゾン発生器25の空気取り入れ口27に上記ゲル状物3）28を詰めた容器29を接続して、気化した抗菌剤を吐出ノズル24から吐出させるようにした。この場合、オゾン発生器25は動作させず、空気だけを吐出ノズル24に送り込むようにした。なお、図3中の符号30は吸入ホース、符号31は吐出ホース、符号32は逆止弁である。このようにして試験した結果を表8に示す。

【0049】

【表8】

表 8

経過時間	菌数 (CFU/100ml)				
	オゾン 8 時間作用	塩素添加	残留塩素 濃度 (ppm)	ブランク テスト	ゲル状物 3)
0時間	2.6×10^5	3.4×10^5	1.5	3.4×10^5	1.2×10^5
1時間		<1000	0.5		
2時間		<1000	0.4		
4時間	1.0×10^5	<1000	0.15	9.0×10^5	<1000
8時間	2.0×10^5	<1000	0.1	7.0×10^5	<1000
24時間	4.0×10^2	<1000	N. D.	1.2×10^6	<1000

【0050】表8の結果から分かるように、オゾン処理では8時間程度連続処理することにより抗菌効果が認められるが、数時間以上の長期間に亘って処理し続けると十分な抗菌効果が得られない。塩素添加の場合、高い抗菌効果が認められるが、厚生省が認める許容量（1.0 ppm）以下にする必要があり、残留塩素濃度は時間の経過とともに減少していくが、残留塩素の臭気（カルキ臭）が残るため好ましくない。これに対し、本発明のゲル状物の場合、4時間経過後には菌数が1000CFU/100ml以下になり十分な抗菌効果が認められる。と同時に

消臭効果もあるので浴湯や室内の消臭もでき好適である。

【0051】[ゲル状物の消臭効果試験]上記したゲル状物1) 180g(検体1))及びゲル状物2) 170g(検体2))を直径72mm、高さ55mmの容器に所定量詰め、容器の上部を開放した状態で、種々の場所に設置して消臭効果を試験した。その結果を表9に示す。

【0052】

【表9】

表 9

検体	1)	1)	1)	1)	1)	2)	2)
設置場所	トイレ	冷蔵庫	台所・室内	事務所	車内	トイレ	冷蔵庫
平均広さ		2201	8畳	14.4畳			2831
手配個数	2	6	2	5	2	1	3
平均設置 日数(日)	32.5	35.3	32.5	26.6	25.5	26	23.7
平均減少 量/日(g)	1.8	2.19	2.72	3.82	4.16	0.92	2.31
平均温度 (℃)	10	5	16.5	22.8	25	10	5
平均湿度 (%)			50	53			
臭チェック	良好	良好	良好	良好	良好	良好	良好
鮮度保持 チェック		良好					良好

【0053】表9の結果から、いずれの設備場所においても消臭効果が良好であることが分かる。また、冷蔵庫内に設置した場合には、庫内に置いた野菜などの生鮮食料品の鮮度はゲル状物を設置しない場合に比べ20～40%程度長く保持された。これは、抗菌効果が発揮されたためと考えられる。

【0054】〔重金属類、毒物等の含有分析試験〕ゲル化

剤を添加しなかった他はゲル状物3)において述べたのと同様に処理して得た液状物について、重金属類、毒物等の含有分析試験を行った。その結果を表10に示す。表10の結果から、本発明の抗菌剤から重金属類や毒物等は検出されていないことが分かる。

【0055】

【表10】

表10 分析試験結果((財) 日本食品分析センター調べ)

分析試験項目	結果	検出限度	分析方法
EPN	検出せず	0.05ppm	ガスクロマトグラフ法
パラチオン	検出せず	0.05ppm	ガスクロマトグラフ法
メチルジメトン	検出せず	0.05ppm	ガスクロマトグラフ法
メチルパラチオン	検出せず	0.05ppm	ガスクロマトグラフ法
ヒ素(Asとして)	検出せず	0.1ppm	DDTC-Ag吸光光度法
鉛	検出せず	0.05ppm	原子吸光光度法
カドミウム	検出せず	0.01ppm	原子吸光光度法
総水銀	検出せず	0.01ppm	還元気化原子吸光光度法
総クロム	検出せず	0.5ppm	ジフェニルカルバジド吸光光度法
シアン	検出せず	0.1ppm	ピリジンピラソロン吸光光度法

〔マウスにおける急性経口毒性試験〕上記〔重金属類、毒物等の含有分析試験〕において用いたものと同じ液状物

を検体として、OECD化学物質毒性試験指針(1987)に準拠し、マウスにおける急性経口毒性試験(限度試

験)を財団法人日本食品分析センターにて行った。試験動物として、4週齢のICR系雌雄マウスを日本エスエルシー株式会社から購入し、約1週間の予備飼育を行って健康に異常のないことを確認した後、試験に使用した。試験動物はポリカーボネート製ケージに各5匹収容し、室温 $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、照明時間12時間/日に設定した飼育室において飼育した。飼料(マウス・ラット用固形飼料(ラボMRストック、日本農産工業株式会社製))及び飲料水(水道水)は自由に摂取させた。

【0056】そして、試験群及び対照群ともに雌雄それぞれ10匹を用い、投与前約4時間試験動物を絶食させた。体重を測定した後、試験群では雌雄ともに20ml/kgの用量で検体を胃ゾンデを用いて強制単回経口投与した。対照群には雄では0.6ml、雌では0.5mlの精製水を同様に投与した。観察期間は14日間とし、投与日は頻回、翌日から1日1回の観察を行った。投与後1週ごとに体重を測定し、t-検定により有意水準5%で群間の比較を行った。試験期間終了時に動物すべてを剖検した。

【0057】上記試験の結果、雌雄ともに観察期間中に死亡例は認められなかった。臨床症状として、試験群では、雌雄ともに投与後数分から全例で自発運動の低下が

見られ、雄で2例、雌で1例に苦悶反応及び体姿勢の異常(腹臥位)が見られた。また、雌雄それぞれ4例によるめき歩行も見られた。苦悶反応は投与後30分後に、その他の症状も5時間後にはおおむね回復し、投与後1日以降には異常は見られなかった。対照群では、観察期間を通して異常は見られなかった。体重変化として、投与後1週及び2週の体重を測定した結果を表11に示す。体重は平均値±標準偏差で表した(単位:g)。括弧内に動物数を示した。この体重測定では、雌雄ともに試験群と対照群の間で体重増加に差は見られなかった。剖検所見として、観察期間終了後の剖検では、雌雄ともに各群で主要臓器に異常は認められなかった。

【0058】OECD化学物質毒性試験指針(1987)では、検体が液体の場合、投与量は体重100g当たり2ml(20ml/kg)を越えるべきではないと指示しており、本試験ではこの投与し得る最高用量で死亡例は認められず、剖検時にも異常は見られなかった。従って、検体のマウスにおける単回経口投与による致死量は、雌雄ともに20ml/kg以上であるものと認められた。

【0059】

【表11】

表11 体重変化

投与群	投与前	投与後	
		7日	14日
試験群	27.1±0.9(10)	31.3±1.5(10)	34.8±2.0(10)
雄			
対照群	27.4±1.0(10)	32.6±1.6(10)	36.0±2.0(10)
試験群	22.9±0.6(10)	24.7±1.1(10)	28.2±1.7(10)
雌			
対照群	22.5±0.5(10)	25.6±1.1(10)	28.2±1.8(10)

【0060】[ウサギにおける皮膚一次刺激性試験]ゲル化剤を添加しなかった他はゲル状物3)において述べたのと同様に処理して得た液状物を検体として、OECD化学物質毒性試験指針(1987)に準拠し、ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験を財団法人日本食品分析センターにて行った。

【0061】日本白色種雄ウサギを北山ラベス株式会社から購入し、1週間以上の予備飼育を行って健康に異常がないことを確認した後、試験に使用した。ウサギは、 $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、照明時間12時間/日に設定された飼育室内で、FRP製ケージに個別に収容された状態で、飼育された。飼料としてウサギ用固形飼料(CR-3、日本クレア株式会社製)を給与し、また水道水を自由に摂取させた。

【0062】試験には3匹のウサギを使用した。試験の24時間前に各ウサギの体幹背部被毛を剃り、体重測定後、約2cm×3cmの試験部位を1匹当たり4つずつ付け

た。そのうち2つの試験部位には真皮まで達しないように多化層にすり傷を付け(有傷)、また他の2つの試験部位は無処置(無傷)とした。そして、有傷、無傷の試験部位のうち各1つに、検体0.5mlが塗布された約2cm×3cmのガーゼパッチを貼付し、絆創膏で固定させた。さらに、ガーゼパッチと皮膚がよく接触するように手術用テープで固定させた。残りの試験部位は対照とした。

【0063】ガーゼパッチの曝露時間は4時間とした。ガーゼパッチ除去後、試験区表面を70%エタノールで清拭し、これから1、24、48及び72時間経過時に観察し、皮膚反応の程度を評価した。皮膚反応の程度を評価する際には、表12に示す評価基準に従って採点した。さらに、1、24及び48時間経過時の採点値を合計して6で除して得た値の全ウサギの平均を算出することによって一次刺激性インデックス(P.I.I.)を求めた。また、必要に応じて72時間経過後も観察を続け

た。皮膚反応評価に関する採点結果を表13に示す。

【表12】

【0064】

表12 皮膚反応評価に関する採点基準		
項目	皮膚反応	採点値
紅斑及び 痂皮	紅斑なし	0
	非常に軽度な紅斑(かろうじて識別できる)	1
	はっきりした紅斑	2
	中等度ないし高度紅斑	3
浮腫	高度紅斑からわずかな痂皮の形成(深部損傷まで)	4
	浮腫なし	0
	非常に軽度な浮腫(かろうじて識別できる)	1
	軽度浮腫(はっきりした膨隆による明確な縁が識別できる)	2
	中等度浮腫(約1mmの膨隆)	3
	高度浮腫(1mm以上の膨隆と華蓋範囲を超えた広がり)	4

【0065】

【表13】

表13 皮膚反応評価に関する採点結果						
経過時間	ウサギ1		ウサギ2		ウサギ3	
	(体重2.86kg)		(体重3.09kg)		(体重3.57kg)	
	無傷	有傷	無傷	有傷	無傷	有傷
1時間	1/0	1/0	2/0	1/0	1/0	1/0
24時間	0/0	0/0	1/0	1/0	1/0	0/0
48時間	0/0	0/0	1/0	1/0	0/0	0/0
72時間	0/0	0/0	1/0	1/0	0/0	0/0
4日	.	.	0/0	1/0	.	.
7日	.	.	0/0	0/0	.	.

結果は、紅斑及び痂皮/浮腫の順に示されている。

・は観察しなかったことを意味する。

【0066】表13の結果から分かるように、浮腫については皮膚反応が認められなかった。紅斑及び痂皮については、ガーゼパッチ除去後1時間経過時に、ガーゼパッチを貼付したすべての試験部位で非常に軽度な紅斑若しくははっきりした紅斑が見られた。しかし、1例(表13中ウサギ1)においては24時間経過時には消失しており、他の例(ウサギ3)においては48時間経過時には消失していた。残る1例(ウサギ2)に関しては、無傷の試験部位では24時間経過時には軽減しており、有傷の試験部位では皮膚反応はすり傷部分に限られていた。また、一次刺激性インデックス(P.I.I)の値は0.7となった。OECD化学物質毒性試験指針(1987)によると、この値は「弱い刺激物」の範疇に入り、本試験に用いた検体は刺激性が弱いと評価される。

【0067】[ウサギにおける眼刺激性試験]上記の[ウサギにおける皮膚一次刺激性試験]で用いたものと同じ液状物を検体として、OECD化学物質毒性試験指針

(1987)に準拠し、ウサギにおける眼刺激性試験を財団法人日本食品分析センターにて行った。

【0068】日本白色種雄ウサギを北山ラベス株式会社から購入し、1週間以上の予備飼育を行って健康に異常がないことを確認した。また試験開始前24時間以内には両眼を検査して異常がないことを確認した。ウサギは、 $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、照明時間12時間/日に設定された飼育室内で、FRP製ケージに個別に収容された状態で、飼育された。飼料としてウサギ用固形飼料(CR-3、日本クレア株式会社製)を給与し、また水道水を自由に摂取させた。

【0069】試験には3匹のウサギを使用した。各ウサギについて体重を測定後、検体をイオン交換水で50%(V/V)に希釈した試験液を、一方の眼の結膜嚢内に0.1ml点眼し、約1秒間上下眼瞼を穏やかに合わせて保持させた。もう一方の眼は対照とするため、イオン交換水のみを同量点眼した。点眼してから1、24、48

及び72時間経過時に、スリットランプ（×10、興和株式会社製）を用いて角膜、虹彩、結膜の観察を行い、眼刺激反応の程度を評価した。眼刺激反応の程度を評価する際には、表14に示す評価基準に従って採点し、また評点を求めた。そして各ウサギについて合計評点を経

過時間ごとに計算し、さらに3匹のウサギの平均合計評点を計算した。その結果を表15に示す。

【0070】

【表14】

表14 眼刺激反応評価に関する採点基準及び評点の計算方法

項目	刺激反応の程度及び評点の計算方法	採点値
角膜	(A)混濁の程度(最も濃い領域を判定)	
	透明、混濁なし	0
	散在性及び慢性混濁、虹彩細部は明瞭に認める	1
	半透明で容易に識別可、虹彩細部はやや不明瞭	2
	乳濁、虹彩紋理認めず、瞳孔の大きさをやっと認める	3
	白濁、虹彩は認めない	4
	(B)角膜混濁部の面積(S)	
	$0 < S \leq 1/4$	1
	$1/4 < S \leq 1/2$	2
	$1/2 < S \leq 3/4$	3
	$3/4 < S \leq 1$	4
評点=(A)の採点値×(B)の採点値×5		
虹彩	正常	0
	正常以上のひだ、うっ血、腫脹、角膜周囲充血の	
	1つ又はいくつかを認めるが、多少とも対光反射はある	1
	対光反射なし、出血、著しい組織破壊の	
	1つ又はいくつかを認める	2
評点=採点値×5		
結膜	(A)眼瞼結膜及び眼球結膜の発赤	
	血管は正常	0
	明らかに血管充血	1
	び慢性、深紅色で個々の血管は識別しにくい	2
	び慢性の牛肉様の赤色	3
	(B)結膜の浮腫	
	腫脹なし	0
	いくぶん腫脹(瞬膜を含む)	1
	明らかな腫脹、眼瞼が少し外反	2
	腫脹、眼瞼半分閉じる	3
	腫脹、眼瞼半分以上閉じる	4
	(C)分泌物	
	認めない	0
	少し認める	1
	分泌物で眼瞼とそのすぐ近くの毛を濡らす	2
	分泌物で眼瞼と周囲の毛のかなりの部分を濡らす	3
評点=((A)の採点値+(B)の採点値+(C)の採点値)×2		

【0071】

【表15】

表15 眼刺激反応評価に関する合計評点の結果

経過時間	ウサギ1 (体重3.20kg)	ウサギ2 (体重3.14kg)	ウサギ3 (体重3.00kg)	平均合計評点
1時間	8	2	4	4.7
24時間	14	0	0	4.7
48時間	2	0	0	0.7
72時間	0	0	0	0

【0072】検体を点眼してから1時間経過時には、2例(表15中ウサギ1及び3)で結膜の発赤(採点1)、浮腫(採点1)が見られ、また2例(ウサギ1及び2)で分泌物(採点1~2)が見られた。分泌物は検体を含んだ涙液状又は白色固形状であった。24時間経過時には、2例(ウサギ2及び3)については刺激反応は消失した。残る1例(ウサギ1)では亢進し、結膜の発赤(採点2)、浮腫(採点2)及び涙液状の分泌物(採点3)が見られた。しかし、72時間経過時にはこの1例でも刺激反応は消失した。対照とした方の眼では、どの経過時においても刺激反応は全く認められなかった。表15の結果から分かるように、平均合計評点の最高値は4.7(1及び24時間経過時)であった。OECD化学物質毒性試験指針(1987)によると、この値は「無刺激物」の範疇に入る。

【0073】[変異原性試験]上記の[ウサギにおける皮膚一次刺激性試験]で用いたものと同じ液状物を検体として、変異原性試験を財団法人日本食品分析センターにて行った。試験方法は労働省告示第77号(昭和63年9月1日)に準拠した。つまり、細菌を検体が添加された平板培地で培養して、復帰変異により出現したコロニーを計数し、その数を陰性対照及び陽性対照と比較することによって、検体の変異原性の有無を調べた。

【0074】試験菌として、

- (1) サルモネラ(Salmonella typhimurium TA 100)
- (2) サルモネラ(Salmonella typhimurium TA 98)
- (3) サルモネラ(Salmonella typhimurium TA 1535)

(4) サルモネラ(Salmonella typhimurium TA 1537)

(5) 大腸菌(Escherichia coli WP2 uvrA)

を用いた。

【0075】検体の添加量は1平板当たり156、313、625、1250、2500及び5000 μ gとした。それぞれについて、代謝活性化条件及び代謝非活性化条件の両方の条件下で培養した。代謝活性化条件では、活性化剤S9(キッコーマン株式会社製、誘導物質フェノバルビタール、5,6-ベンゾフラボン)を含んだS9溶液を平板培地に添加した。代謝非活性化条件では、替わりに0.1M Na-リン酸緩衝液(pH7.4)を添加した。S9溶液の組成は以下の通りである。

【0076】S9溶液の組成(1ml当たり)

S9	0.1 ml
MgCl	8 μ mol
KCl	33 μ mol
G-6-P	5 μ mol
NADPH	4 μ mol
NADH	4 μ mol
Na-リン酸緩衝液(pH7.4)	100 μ mol

【0077】陰性対照では、検体を添加せずに培養した。また陽性対照では、検体の代わりに変異誘起物質を添加した。各試験菌についての変異誘起物質の種類と添加量を表16に示す。

【0078】

【表16】

表16 変異誘起物質と1平板当たりの添加量(μ g)

試験菌	代謝活性化条件		代謝非活性化条件	
	変異誘起物質	添加量	変異誘起物質	添加量
サルモネラ TA 100	AF-2	0.01	2-AA	1
サルモネラ TA 98	AF-2	0.1	2-AA	0.5
サルモネラ TA 1535	ENNG	5	2-AA	2
サルモネラ TA 1537	9-AA	80	2-AA	2
大腸菌 WP2 uvrA	AF-2	0.01	2-AA	10

AF-2:2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

ENNG:N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

9-AA:9-アミノアクリジン

2-AA:2-アミノアントラセン

【0079】試験菌を培養する手順を以下に示す。まず、滅菌試験管内に、所定量の検体を含んだ試験液0.1mlあるいは所定量の変異誘起物質(陽性対照)、S9溶液(代謝活性化条件の場合)あるいは0.1M Na-リン酸緩衝液(pH7.4)(代謝非活性化条件の場合)を0.5ml、及び予め適当に調製された菌液0.1mlを順次加える。次に、37℃に設定された恒温槽で20分間振とうした後、トップアガー(0.6%バクトアガー”(デ

ィフコ社製)、0.5%NaCl)を2ml加える。なお、このトップアガーには、サルモネラについては0.5mM L-ヒスチジン-0.5mM D-ビオチン溶液を、大腸菌については0.5mM L-トリプトファン溶液を1/10容量含ませている。続いて、最小寒天グルコース平板培地(クリメディアAM-N培地、オリエンタル酵母工業株式会社製)上に一様に広げ、37℃に設定された恒温器の中で48時間培養する。

【0080】本試験は2反復で行った。コロニーを計数する際には、随時、自動コロニーカウンター（吉川工業株式会社製）を利用した。表17に1平板当たりのコロニー数の平均値を示す。また無菌試験として、最小寒天グルコース平板培地に、菌液を加えないまま、試験液、

S9溶液及びトップアガーのみを添加し、37℃に設定された恒温器の中で48時間培養して、コロニーの有無を観察した。

【0081】

【表17】

表17 変異原性試験結果						
条件	添加量(μl)	コロニー数の平均値				
		サルモネラ				大腸菌
		TA 100	TA 98	TA 1535	TA 1537	WP2 uvrA
代謝 活性化 条件	陰性対照	87	22	10	13	18
	156	90	27	5	17	27
	313	90	25	7	18	20
	625	94	24	7	11	23
	1250	85	21	3	12	20
	2500	64	20	2	6	15
	5000	33	10	0	3	11
陽性対照		627	244	174	101	854
代謝 非活性化 条件	陰性対照	90	25	5	10	17
	156	86	19	4	7	17
	313	77	9	8	6	14
	625	70	9	7	11	13
	1250	64	11	3	6	16
	2500	46	11	1	2	14
	5000	7	4	0	0	9
陽性対照		738	324	7090	1956	139

【0082】無菌試験ではコロニーは観察されなかった。また、表17に見られるように、検体を培地に添加して培養しても、コロニー数が陰性対照とあまり変わらなかった。一方、陽性対照と比較すると、コロニー数が明らかに少なかった。すなわち検体を培地に添加して培養しても、復帰変異により出現したコロニーは認められなかった。このことから、本発明の抗菌剤は変異原性をもっていないと判定される。

【0083】

【発明の効果】以上説明したように本発明の消臭性を付与した抗菌剤によれば、植物由来の成分をその有効成分としており安全性が高く、消臭性と抗菌効果とを併せもたせることができる。また、本発明の消臭性を付与した抗菌剤をゲル状物とすることにより、有効成分の揮発を促し、消臭及び抗菌効果を高めることができる。特に、病原性大腸菌O157などの食中毒菌やレジオネラ菌に対しても高い抗菌効果が得られる。

【図面の簡単な説明】

【図1】ゲル状物の抗菌効果試験方法の説明図。

【図2】浴槽での抗菌効果試験方法の説明図。

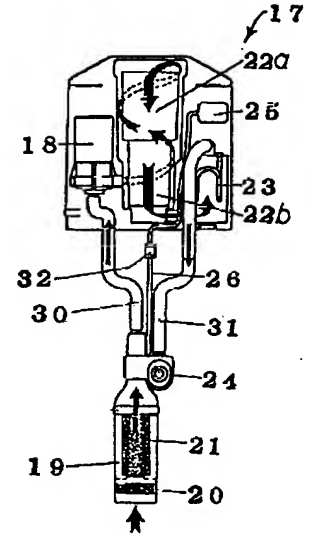
【図3】循環温浴装置の説明図。

【符号の説明】

- 10 ゲル状物（検体）
- 11 容器
- 12 平板培地
- 13 密閉容器
- 15 浴槽
- 16 浴湯
- 17 循環温浴装置
- 18 ポンプ
- 19 吸引ノズル
- 20 ヘアキャッチャー
- 21 カートリッジフィルター
- 22 a、22 b ろ材
- 23 ヒーター
- 24 吐出ノズル
- 25 オゾン発生器
- 26 エアーチューブ
- 27 空気取り入れ口
- 28 ゲル状物

31 吐出ホース
32 逆止弁

【図3】



R